

Basıldığında KONTROLSUZ KOPYA niteliğindedir.



T.C. Sağlık Bakanlığı

# ULUSAL MİKROBİYOLOJİ STANDARTLARI (UMS)

## Ekinokokkozun

(*Echinococcus granulosus* ve *Echinococcus multilocularis*)

## Mikrobiyolojik Tanısı

Hazırlayan Birim	Klinik Parazitoloji Standartları Çalışma Grubu
Onaylayan Birim	Türkiye Halk Sağlığı Kurumu
Kategori	Parazitoloji
Bölüm	Mikrobiyolojik Tanımlama
Standart No	P-MT-07
Sürüm No	1.1
Onay tarihi	01.01.2015
Geçerlilik tarihi	01.01.2018

Sürüm no	Tarih	Değişiklik

## İÇİNDEKİLER

KAPSAM VE AMAÇ.....	3
KISALTMALAR VE TANIMLAR .....	3
GENEL BİLGİ .....	3
Epidemiyoloji ve hastalığın önemi.....	3
Klinik görünümleri .....	4
Laboratuvar tanısı.....	5
TEKNİK BİLGİLER .....	6
1 Hedef mikroorganizmalar .....	6
2 Tanı için asgari laboratuvar koşulları .....	6
3 Ekinokokkoz tanısında kullanılan teknikler .....	8
4 Test sonuçlarının yorumu, raporlama, bildirim .....	12
5 Olası sorunlar/kısıtlılıklar.....	12
İLGİLİ DİĞER UMS BELGELERİ.....	13
KAYNAKLAR.....	13

## Kapsam ve Amaç

İnsanlar köpek ve benzeri türlerin tenyası olan *Echinococcus* spp ile enfekte olduklarında, parazit vücutta kist oluşumları ile seyreden ve ekinokokkoz adı verilen hastalık tablolarına neden olabilirler. Başlıca iki şekli görülür: *Echinococcus granulosus*'un neden olduğu **hidatik** veya uniloküler kist hastalığı (kistik ekinokokkoz); ve *Echinococcus multilocularis*'in neden olduğu **alveoler** kist hastalığı (alveoler ekinokokkozis) (1,2).

Kistik ekinokokkoz *E. granulosus*'un larva formunun neden olduğu dünyada yaygın görülen bir zoonozdur. Hidatidoz, kist hidatik, hidatik kist hastalığı gibi adlarla da anılmaktadır. Ülkemizde bildiri zorunlu hastalıklar arasında yer alan ve sürveyans kapsamında izlenen bir enfeksiyondur (3).

Hastalığın tanısı esasen görüntüleme yöntemlerine dayanmaktadır. Ancak serolojik yöntemlerle tanının desteklenmesine gereksinim duyulabilir. Bazı durumlarda da kist sıvısı aspiratlarından direkt tanıya gidilmesi gerekebilir.

Bu UMS'nin amacı, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarına ekinokokkozun tanısında kullanılan laboratuvar yöntemlerini ve bulguların yorumlanmasını kapsayan standart bir tanı yaklaşımı için bir rehber sunmaktır.

## Kısaltmalar ve Tanımlar

- KE** Kistik ekinokokkoz  
**AE** Alveoler ekinokokkoz  
**WB** Western blot

## Genel Bilgi

### Epidemiyoloji ve hastalığın önemi

Kistik ekinokokkoz tüm dünyada yaygın olarak görülen bir zoonozdur. Ülkemizde Doğu Anadolu Bölgesi'nde daha sık olmak üzere tüm bölgelerimizde yaygın olarak görülmektedir. Etken *E. granulosus*, erişkin formu köpek ve köpekgillerin bağırsağında yaşayan bir cüce tenyadır (sestod) ve özellikle hayvancılıkla uğraşan bölgelerde evcil köpekler arasında sıktır. Bir köpeğin bağırsağında binlerce tenya oluşur ve bunlar büyük miktarlarda yumurta üretirler. Doğaya saçılan yumurtalar insanlar (özellikle çocuklar) dahil pek çok ara konak memeli türü (koyun, siğir, domuz, kemirgenler ve diğer otçul hayvanlar) tarafından alınırlar. İnsanlara kontamine eller veya gıdalarla ağız yoluyla bulaşır (4,5).

Başta karaciğer olmak üzere vücuttaki değişik organ ve dokulara yerleşen larvalar yavaş büyüyen kistler oluştururlar ve buldukları yere göre değişen semptomlara, nadiren ölüme neden olurlar (4,5). Kistik ekinokokkoz (KE) bir enfeksiyon hastalığı olmasına rağmen, tedavide ilk seçeneğin cerrahi yöntemler olması ciddi iş gücü kayıplarına sebep olmaktadır (5).

*E. granulosus* insanda enfeksiyon oluşturan en önemli türdür ve özellikle hayvancılıkla uğraşan ülkelerde, Orta-Doğu, Akdeniz'i çevreleyen ülkeler, bazı Sahra-altı ülkeleri, Rusya, Çin, Orta ve Güney Amerika'da yaygın görülmektedir. *E. granulosus*'un farklı kökenleri tanımlanmıştır ve bunlar özellikle insanda enfeksiyözite bakımından farklılık gösterirler. İnsan enfeksiyonu için en önemli kökenlerin koyun (G1) ve sığır (G5) ara konak suşları olduğu gözlenmiştir (6).

*E. multilocularis* (Avrupa'nın kuzey ormanlık alanlarında, Asya ve Kuzey Amerika ile Arktik bölgelerde) ve *E. vogeli* (Güney Amerika'nın dağlık bölgelerinde) enfeksiyonları vahşi köpekgiller aracılığı ile yayılır ve oldukça az görülürler (1,2).

## Klinik görünümüleri

*E. granulosus*'un yumurtaları ağız yoluyla alınıp bağırsaklara ulaştığında açılırlar ve oluşan onkosferler mukozalara tutunup dolaşıma girerler. Onkosferler konağın iç organlarında olgun larvaları içeren bir kist oluştururlar. Kist berrak bir sıvı ile (kaya suyu tarzında) dolu olup kalın bir kapsüle sahiptir ve çok sayıda (bazen binlerce) protoskoleks içerir (1,2). Tek odacıklı (uniloküler) olan kistler çok yavaş büyürler (7).

Hidatik kist en sık karaciğerde (vakaların %50-70'inde) veya akciğerde (%20-30) yerleşim gösterir. Fakat hayli düşük sıklıkla da olsa (<%10) vücutta diğer herhangi bir organı da tutabilir.

Enfeksiyon çoğu zaman vakalarda semptomlar gelişmemişken, görüntüleme teknikleri kullanıldığında tesadüfen saptanır. Eğer semptomlar gelişmiş ise klinik belirtiler yerleştiği organ ve dokuya göre değişir ve bunlar genellikle kitle etkisine bağlı semptomlardır. En sık yerleştiği iki organa (karaciğer ve akciğer) göre belirti ve bulguları sağ üst kadranda ağrı, hepatomegali, öksürük ve hemoptizi olarak sayılabilir. Eğer kist safra yoluna veya bronşlara penetre olursa kist içeriği lümene boşalır ve tıkanıklıklara ya da tıkanıklık kaynaklı bakteriyel enfeksiyonlara neden olabilirler. Kistin delinmesi veya yırtılması (<%10 vakada) ise parazit antijenlerine bağlı anafilaksi ile seyredabilen ağır alerjik reaksiyonlara veya kız kistlerin yeni bölgelerde çok sayıda yeni kist meydana getirmelerine yol açabilir ki bunlar kist hidatiğin ölümlü sonuçlanabilen en ciddi komplikasyonlarıdır (1,2).

KE yaş ve cinsiyet ayrımı gözetmemesine rağmen 30-50 yaş aralığında ve kadınlarda daha siktir (8).

*E. multilocularis*'in neden olduğu alveoler ekinokokkoz (AE) ise agresif bir patolojidir. *E. multilocularis* kistleri organ içinde yanal tomurcuklanma ile çoğalırlar. Tümöre benzer şekilde komşu dokulara doğru yavaş, yavaş yayılma gösterirken, vücudun uzak bölümlerine de "metastaz" yapabilirler (1,3).

Semptomlar tutulan organa göre (ki en sık karaciğerdir) olmak üzere yavaş yavaş gelişir. Başlıca komplikasyonları safra yolu hastalığı, portal hipertansiyon ve Budd-Chiari sendromudur. Enfeksiyonun komplikasyonlarını önlemek için semptomatik kistlerin tedavi edilmesi ve asemptomatik kistlerin yıllarca dikkatli bir şekilde izlenmesi gerekir (1,3).

Albendazol ile medikal tedavi başarılarının halen sınırlı kaldığı hastalıkta cerrahi yaklaşımlar yüz güldürücüdür. Lokalizasyonu dolayısıyla ulaşılması mümkün olan lezyonlarda Ponksiyon Aspirasyon İnjektasyon Reaspirasyon (PAIR) uygulamaları da son derece başarılıdır (9).

## Laboratuvar tanısı

Hastalığın tanısında görüntüleme yöntemleri (ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi vb.) oldukça başarılıdır ve tanı esasen görüntüleme tekniklerinin kullanımına dayanır. Ancak kimi zaman görüntüleme ile elde edilen bulgular belirsizlik arz eder ve enfeksiyon yönünden şüpheli durumun aydınlatılması gerekir. Böyle durumlarda doğrulama için serolojik yöntemlerin kullanımı önem kazanmaktadır.

Serolojik tanı genellikle IHA ya da ELISA gibi bir tarama amaçlı testi takiben -bu test eğer pozitif ise- doğrulayıcı olarak 'Western blot' testinin kullanılması ile konur (7,10). Serolojik testlerin duyarlılığı vakanın özelliklerine göre değişmektedir; karaciğer kistlerinde duyarlılık %80 ile %100 arasında ve özgüllük %88 ile %96 arasında değişirken, akciğer enfeksiyonlarında (%50-56) ya da diğer organ tutulumlarında (%25-56) daha düşüktür. Sistiserkoz ile yanlış pozitif reaksiyonlar gözlenebilir (1,2).

AE tanısında serolojik testler kistik ekinokokkoza göre daha güvenilirdir. Saflaştırılmış *E.multilocularis* antijenleri ile duyarlılık %91-100 ve özgüllük %98-100'dür. Bu antijenler %95 güvenilirlik ile alveoler ve kistik formlar arasında ayırma izin verir (6).

Son yıllarda geliştirilmiş 'dipstick' testleri de kistik ekinokokkozun serolojik tanısında önemli bir gelişme olarak görülmektedir. Özel ekipman gerektirmeyen, uygulaması çok kolay ve 15 dakika içinde görsel olarak değerlendirilebilen, üstelik yüksek duyarlılığa ve özgüllüğe (duyarlılık %100 ve özgüllük %91.4) sahip bu testler, kistik ekinokokkozun tanısında klinik laboratuvarlarda kullanım için kabul edilebilir bir alternatif olacak gibi gözükmemektedir (11).

Benzer şekilde, hidatik kist sıvısı ekstratlarından ham ve kısmen saflaştırılmış dört nativ antijen kullanılarak, insan KE ve AE serolojik tanısında bir yeni, hızlı 'dot immunogold filtration assay' (DIGFA) geliştirilmektedir. Benzer şekilde basitçe 3 dakikada gelişen renk değişikliğinin değerlendirilmesine dayanır ve KE tanısında %80.7, AE tanısında %92.9 duyarlılığa ulaştığı rapor edilmiştir (11). Bu hızlı testler KE ve AE için endemik alanlarda kitle taramalarında da ultrason ile birlikte kullanışlı olabilirler.

Tanı amacıyla protoskoleksleri görmek için kistten ponksiyon (iğne aspirasyonu) ile sıvı alınması anafilaktik reaksiyon, sekonder ekinokokkoz gibi ciddi komplikasyon olasılığı yüzünden tavsiye edilmez. Ancak, aspirasyon sitolojisi görüntüleme yöntemlerinin ve serolojinin yeterli tanısal destek sağlamadığı akciğer, böbrek ve diğer karaciğer dışı lezyonların saptanmasında özellikle yararlı gibi görünmektedir. Aspire protoskolekslerin canlılığı mikroskopik olarak alev hücre aktivitesi ve tripan mavisi alma durumuna bakılarak değerlendirilebilir (3).

Serolojik testler tanıda çok yararlı olabilirler ve invaziv metotlardan önce kullanılmalıdırlar. Bununla birlikte, diğer helmint enfeksiyonları, kanser ve kronik bağışıklık sistemi bozuklukları gibi parazite ve hastaya ilişkin faktörler yanlış pozitif sonuç olasılığı bakımından dikkate alınmalıdır. Bazı kist taşıyıcılarında tespit edilebilir antikorlar bulunmayabileceği için negatif test sonuçları da ekinokokkoz olasılığını dışlamamaktadır (6,11).

Hastada saptanabilir antikor olup olmaması, larval kistin fiziksel konumuna, bütünlüğüne ve canlılığına bağlıdır.

Karaciğer kistlerinde antikor yanıtının ortaya çıkması akciğer yerleşimli kistlere göre daha olasıdır ve kistin yerleşiminden bağımsız olarak bir 'intact' hyalin kisti olan hastalarda antikor saptayan yöntemler en az duyarlıdır.

Akciğer, beyin ve dalaktaki kistler düşük serodiagnostik reaktivite ile ilişkili iken kemikteki kistlerin daha düzenli olarak tespit edilebilir düzeylerde antikorları stimüle ettiği görülür (11).

Eğer kistin bütünlüğü bozulursa (kistin delinmesi, yırtılması) bu olayı antikorların bir ani uyarımı takip eder. Yaşlanmış, kalsifiye veya ölü kistleri olan hastalar ise genellikle seronegatifler (12).

Serolojik tanıda en iyi yaklaşım testlerin kombine kullanılmasıdır; örneklerin önce ELISA veya IHA ile test edilmesini ve sonra pozitif bulunanların bir immüno blot veya jel difüzyon testi ile teyit edilmesini kapsar. Bu doğrulayıcı testlerin de nörosistiserkozda %5-25 oranında yanlış pozitif sonuç verme olasılığı varsa da, klinik ve epidemiyolojik görünümü ile nörosistiserkoz vakalarının KE ile nadiren karışabileceği kabul edilmektedir (12).

## Teknik Bilgiler

### 1 Hedef mikroorganizmalar

*Echinococcus granulosus*, *Echinococcus multilocularis* (ve insanda hastalık etkeni olabilen diğer *Echinococcus* spp)

### 2 Tanı için asgari laboratuvar koşulları

#### 2.1. Laboratuvar güvenliği

Potansiyel enfeksiyöz organizmalar içerebileceği için parazitolojik tanı örnekleri asgari BGD2 laboratuvar şartlarında incelenmeli ve daima "Ulusal Laboratuvar Güvenliği Rehberi"nde belirtilen standart güvenlik önlemleri uygulanmalıdır.

Serolojik çalışmalar sırasında en ciddi risk kan-kaynaklı patojenlerin (özellikle HIV ve hepatit etkenleri) bulaşması riskidir. Serum ayırma vb. işlemler yapılırken daima **eldiven** giyilmelidir.

Lamlar, boyanmış olsun olmasın, **kesici-delici atık** kabul edilir ve kesinlikle kesici-delici atık kutusuna atılırlar! Diğer biyolojik kirlilerin bulunduğu torbalara atılmaları halinde torbayı deler ve ciddi enfeksiyöz risk oluştururlar!

#### 2.2. Sorumluluklar ve asgari personel gerekleri

Bu UMS'yi kullanacak laboratuvar personeli; (i) tekniklerin uygulanmasından önce, amaçlanan kullanım ile ilgili eğitim almış olmalı; (ii) tekniğe tüm yönleriyle aşina olmalı, ve (iii) daima tüm laboratuvar güvenlik kurallarına uymalıdır.

Bu UMS'nin uygulanmasından analist; tekniklerin prosedüre uygun yapılmasını sağlamaktan ve denetimi, değerlendirilmesi ve onaylanmasından (sonucun doğru ve güvenilir olmasından) Tıbbi Mikrobiyoloji/Parazitoloji Uzmanı sorumludur.

İnvaziv teknik kullanılarak alınmış örnekler en kısa sürede ve **mutlaka** Tıbbi Mikrobiyoloji / Tıbbi Parazitoloji Uzmanı tarafından bizzat incelenmeli, değerlendirilmeli ve sonuçlandırılmalıdır.

### 2.3. Örnek, Kit, Donanım

#### İnceleme örnekleri

Örneklerin alınması ve gönderilmesine ilişkin detaylı bilgi "Bulaşıcı Hastalıkların Laboratuvar Tanısı için Saha Rehberi"nden edinilebilir. Aşağıda bazı önemli noktalara tekrar dikkat çekilmektedir. Buna göre:

- Serum – ekinokokkozun laboratuvar tanısında seroloji ön plandadır. Kronik bir enfeksiyon olduğu için serumun ne zaman alındığının önemi yoktur. Operasyon sonrası nüks takibi için serolojik inceleme yapılacak ise; ilk iki yıl süresince en az altı ayda bir, sonraki üç yıl ise yılda bir serum alınıp test edilmelidir.
- Kist aspirasyon sıvısı – endikasyon varsa aseptik koşullarda klinisyen tarafından alınır. 3-4 mL örnek yeterlidir.
- Operasyon ile çıkarılmış kist - incelenmek üzere patolojiye gönderilir.
- Doku örnekleri asla formol içermemelidir! Asla dondurulmaz!  
NOT 1: Mikroskopi için taze preparat; histoloji için fikse edilmiş preparat; PCR için taze, donmuş ya da etanol ile fikse edilmiş örnek olmasına dikkat edilmelidir.  
NOT 2: Klinisyen örneklerin hangi fiksatifle gönderilmesi gerektiği konusunda laboratuvarla iletişime geçmelidir.
- Balgam - tanıda öncelikli bir inceleme örneği değildir. Pulmoner kist rüptürü olmuş ise hemen rüptürü takiben balgam örneği alınmalıdır. Kist sıvısı ve membranlarını içeren değerli bir materyaldir.

#### Reaktif / Kit

- Serolojik inceleme için piyasada özgül antikoların saptanmasına yönelik IHA, ELISA, IFA veya Western Blot kitleri mevcuttur.
- Mikroskopik inceleme için; %5-10 formol, Streptokinaz veya sputolizin, %10'luk KOH
- Moleküler yöntemler – Piyasadan hazır temin edilebilen DNA izolasyon ve PCR kitleri kullanılabilir. Ayrıca reaktiflerin bir araya getirilmesi ile öz-yapım geleneksel PCR da kullanılabilir. PCR duyarlılığını artırmak amacıyla dokudan DNA izolasyonunda uygun modifikasyonların kullanılması gerekebilir.

#### Diğer gereç, donanım

*ELISA için;*

- ELISA yıkayıcı, ELISA okuyucu
- Ayarlanabilir otomatik mikropipetler (5-1000 µL) ve pipet uçları

*Mikroskopi için;*

- Mikroskop, binoküler (rutin) – 10× (düşük), 40× (yüksek kuru), 100× (immersiyon) objektifleri ve 10× oküleri olan tercih edilir.

NOT: 5× oküler önerilmez! Daha az büyütme sağladığı için inceleme duyarlılığı düşüktür. 10× oküler kullanılmalıdır (13).

- Lamlar (25×75 mm; tercihen kenarı rodajlı) ve lameller (22×22 mm)
- Pastör pipetleri, 1 ve 10 ml pipetler
- Santrifüj
- Biyolojik atık kapları, kesici-delici atık kabı

*PCR ve diğer moleküler yöntemler için;*

- En az üç ayrı oda - Nükleik asit ekstraksiyonu, PCR karışımı hazırlama, amplifikasyon ve sonuç gözetimi için ayrı odalar. İdeal olarak PCR karışımı hazırlama odası (temiz) pozitif basınçlı, agaroz jel elektroforezi yapılan oda (kirli) negatif basınçlı havalandırmaya sahip olmalıdır.
- Donanım – BGK, soğutmalı mikrosantrifüj, hassas terazi, vorteks, su banyosu, PCR ısı döngü cihazı (gerçek zamanlı veya geleneksel), mikrodalga fırın, jel görüntüleme sistemi, elektroforez ünitesi vb.

## 2.4. Kalite kontrol

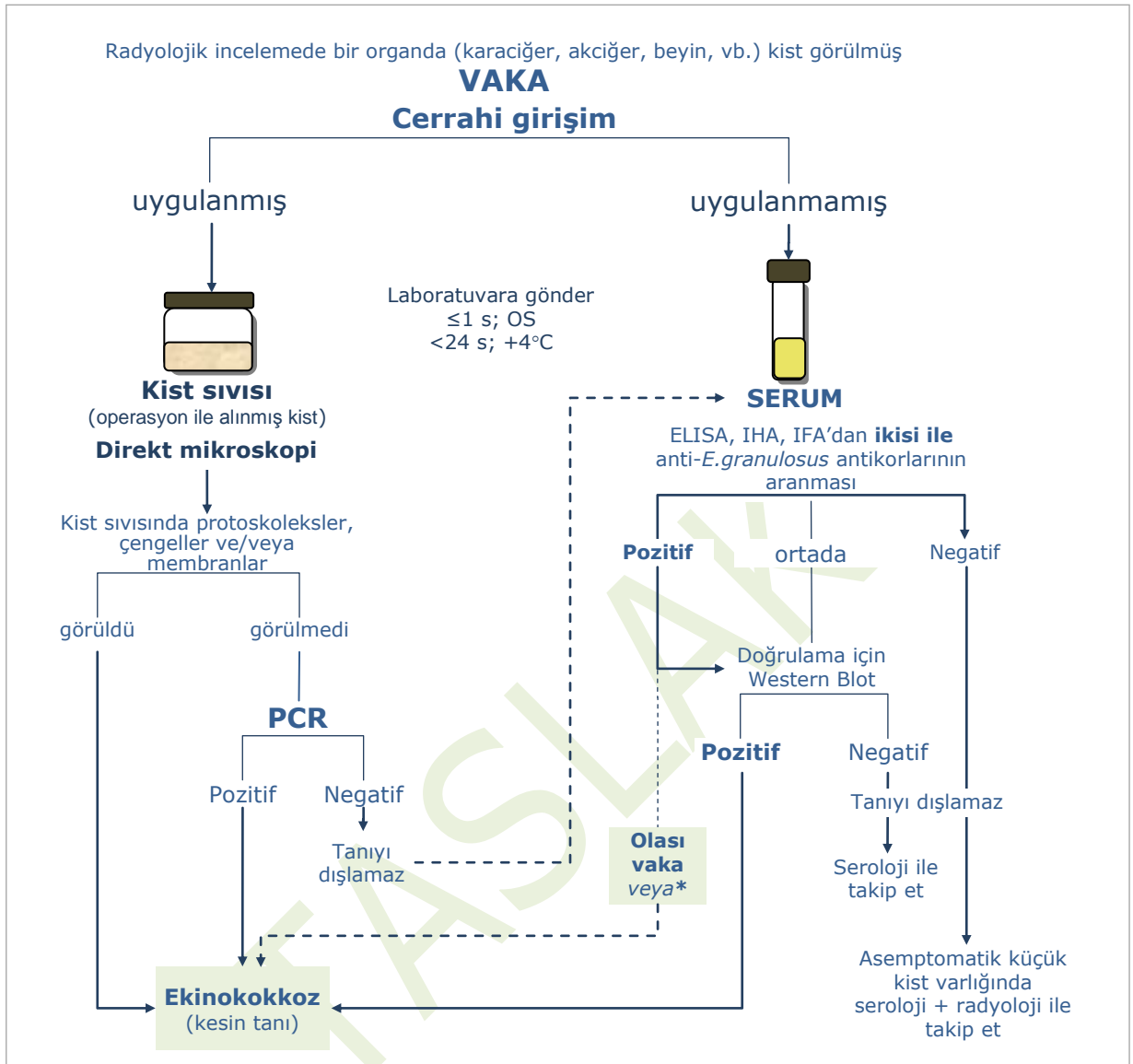
- Kullanılan kitlerin (moleküler testler için olanlar dahil) son kullanma tarihleri ve saklama koşullarına dikkat edilmelidir. Kontrol örnekleri kullanılarak bu etkinlik değerlendirilebilir.
- Her yeni -hazırlanmış veya ticari- reaktif seti veya kit lotu, kullanıma sokulmadan önce pozitif kalite kontrol örnekleri ile test edilmelidir.
- Tüm ekipmanın bakım ve kalibrasyonu yapılmış olmalıdır.
- Mikroskop belirli aralıklarla (yoğun kullanılıyorsa yılda en az bir kez) kalibre edilmelidir. Mikroskoba herhangi bir parça eklenmesi veya değiştirilmesi durumunda da kalibrasyon yapılmalıdır. Kalibrasyon için kullanılmış optikler mikroskobun üzerinde olmalıdır. Tüm objektifler için kalibrasyon faktörleri göz önündeki bir panoda asılı olmalıdır (*bkz.* UMS, P-TP-01 Mikroskop Kalibrasyonu).
- Tüm kalite kontrol sonuçları kaydedilmelidir.

## 3 Ekinokokkoz tanısında kullanılan teknikler

- Ekinokokkoz şüpheli olgularda yapılacak testleri hastanın operasyon durumu belirler. Operasyon **öncesi** tanıyı kesinleştirmek için serum örneği ve eğer akciğer kist rüptürü olmuş ise balgam incelenebilirken, operasyon **sonrası** opere kistin incelenmesi ön plandadır.
- Kistik ekinokokkoz kuşkusunda tanı için operasyon sırasında çıkarılmış örnekler Patoloji Laboratuvarı'na da gönderilebilir ve preparatlar burada hazırlanabilir. Bu durumda mikroskopik inceleme ideal olarak Parazitoloji Uzmanının konsültasyonu ile yapılmalıdır.
- Kitlere dayalı testler laboratuvarında üreticinin talimatına göre çalışılır.
- Laboratuvar incelemeleri için bir akış şeması Şekil 1'de verilmiştir.



### 3.1. Tanı akış şeması



**Şekil 1.** Kistik ekinokokkozun laboratuvar tanısında vakanın özelliğine göre örnek tipleri, testlerin seçimi ve olası sonuçlar için akış şeması.

OS, oda sıcaklığı; IHA, indirekt hemaglutinasyon; IFA, indirekt floresan antikor (test);

\* İki serolojik test (ör., IHA+ELISA çifti) pozitif bulunduğu anda, eğer görüntüleme yöntemlerinden biri de (bilgisayarlı tomografi, ultrasonografi vb.) pozitif ise vaka "ekinokokkoz" kabul edilir.

### 3.2. Seroloji

- Kistik ekinokokkozun laboratuvar tanısında en yaygın teknik serolojidir. Serolojik sonuçlar ile elde edilen pozitiflik bildirimine esas tanı kriterleri arasında yer almamakla birlikte seroloji klinik tanıya yardımcıdır.
- En sık kullanılan testler IHA, ELISA, IFA ve WB'dir. Tanı desteği için ideal olan; IHA, ELISA, IFA'dan ikisi ile elde edilen pozitif sonucun WB ile doğrulanmasıdır (Şekil 1). WB, tanıda ve tedavinin takibinde en değerli testtir.

- ELISA sonuçları kantitatifdir. Operasyon öncesi değerler mevcut ise, operasyon sonrası izlem mümkündür ve bu nedenle değerli bir testtir (IgG4-ELISA, özgül IgE-ELISA, IgM-ELISA).

### 3.3. Kist materyalinin incelenmesi (operasyon ile çıkarılmış veya diğer örnekler)

#### Makroskopik inceleme

- Tipik üç katmanlı yapı ve içerisindeki sıvı ve hidatik kum görüntüsünün izlenmesi ile kesin tanı konur.
- Pulmoner/alveoler ekinokokkozda ve kemikte yerleşen kistlerde tipik yapının görülmeyeceği hatırlanmalıdır!
- Makroskopik incelemede tipik yapıların görülmemesi, olumsuz rapor verilmesi için yeterli değildir. Mikroskopik incelemeye gidilmelidir.
- Kistler eski ve kuru ise kist duvarından alınan parça da patolojik incelemeye gönderilmelidir.

#### Mikroskopi için örneklerin hazırlanması

- Kist sıvısından (operasyon ile çıkarılmış ya da aspirat) mikroskopik inceleme yapılmalıdır. Bazen bir balgam örneğini de, balgam ile atılan materyalin patlamış bir akciğer kistine ait olup olmadığını değerlendirmek amacıyla incelemek gerekebilir.  
NOT 1: Kist duvarından alınan parça histopatolojik açıdan incelenmek üzere patoloji laboratuvarına yönlendirilmelidir.  
NOT 2: Uzun süreli antiparaziter tedavi kullanımı, PAIR uygulaması gibi klinik durumlarda istenen canlılık tayini için alev hücre aktivitesine bakılabilir ve/veya %0.1-1'lik eozinle vital boyama testi uygulanabilir.
- **Sıvı** örnekler 500 × g 'de 3 dk santrifüj edilir.
- **Kist sıvısı** visköz ise SF ile karıştırılır. Lam-lamel arası preparatlar hazırlanır. Bazı yaşlı kistlerde içerik peynirimsi bir hal alır ve çengelleri görmek zorlaşır. Bu durumda materyal %10'luk KOH ile işlenir.
- **Balgam** (mukolitik ajanla işlenmemiş) örneğinden doğrudan lamın iki tarafına birer damla damlatılır. Birinin üzerine bir damla SF katılarak lamelin ucuyla karıştırılır ve sonra her ikisinin de üzeri lamel ile kapatılarak preparat hazırlanır.
- **Balgam** visköz ise %3 KOH veya NaOH ile yarı yarıya karıştırılır; 500 x g'de 5 dk santrifüj edilir. Santrifüj sonrası üst kısım atılır ve çökeltiden nativ-Lugol preparatı hazırlanır (bkz. UMS P-TP-02).  
NOT: Diğer parazitlerin (helmint yumurta ve larvaları, protozoonlar) varlığından da şüpheleniliyorsa, ancak hemen incelenemeyecekse balgam %10 formol ile ve protozoonlar yönünden yapılacak boyama için PVA ile fikse edilmelidir (bkz. UMS P-ÖY-01).
- **Mukus** içeren örnekler varsa ticari bir mukolitik ajan ile işlenir. Bunun için örnek kadar veya örneğin yarısı ile üçte ikisi hacminde mukolitik ajan eklenerek oda sıcaklığında 15 dk inkübe edilir. 1000 x g'de 5 dk santrifüjlenir.

**ÖNEMLİ:** Sputolizin ve streptokinaz çalışma reaktifleri +4°C 'de saklanmalı, 48 saatten sonra taze hazırlanmalıdır.

- **Hücre artığı** ve **protein** içeren, sindirim gerektiren örneklerde organizmayı serbest bırakmak için proteolitik enzimlerin (Streptokinaz) kullanılması önerilir (5 birim örneğe 1 birim enzim solüsyonu olacak şekilde). 30 dk - 1 saat kadar 37°C 'de bekletilen karışım 15 dk'da bir çalkalanmalıdır. 1000 x g'de 5 dk santrifüjlenir.
- Anlamlı miktarda **kan** içeren örnekler, örnek hacmi kadar alyuvarları eritici bir ajanla oda sıcaklığında 5 dk inkübe edilmelidir. 1000 x g'de 5 dk santrifüjlenir.
- Santrifüj edilmiş örneklerde çökeltiden direkt mikroskopik inceleme için lam-lamel arası (gerekli durumlarda boyalı) preparatlar hazırlanır.

### Mikroskopik inceleme

- Lam-lamel arası preparatlar 10× ve 40× objektiflerle mikroskopta incelenir. Protoskoleks, kız vezikül ve çengellerin görülmesi ile **kesin tanı** konur.
- Kist sıvısı sıklıkla hidatid kum (sağlam ve dejenere skoleksler, çengeller ve kalsifiye duvar parçacıkları) içerir. Mikroskopta incelenen örneklerde tipik protoskoleks ya da çengeller görülmesi beklenir (Şekil 2).
- %10 KOH ile işlemlenmiş örneklerde skoleks ve kız kistler parçalanmış olacağından sadece çengeller görülebilecektir (40× objektif ile).  
NOT: Mikroskopik incelemede tipik yapıların (skoleks ya da çengel) görülmemesi hastalığı ekarte ettirmez! Bazı kistler steril olabilir (yani hiç skoleks ve kız kist içermeyebilir). Mümkünse PCR ile araştırılmalıdır.
- Kist duvarının histolojik incelemesi de tanı kesin tanı koydurucudur.



**Şekil 2.**  
Protoskolekslerin direkt mikroskopik incelemede görünümü

### Moleküler tanı

- Kist sıvısı veya kist membranlarından PCR ile DNA analizi yapılır. Pozitif sonuç kesin tanı koydurur. Negatif sonuç tanıyı dışlamaz.  
NOT: Kist sıvısından DNA ekstrakte edebilmek için içinde protoskoleks bulunması gerekir. Protoskoleks yoksa kist membranlarından DNA ekstraksiyonu yapılmamalıdır.

### 3.4. Saklama, Referans merkeze gönderme

- Pozitif serum örnekleri ve kist sıvısı laboratuvarın eğitim ve kalite kontrol uygulamalarında kullanılmak üzere saklanmalıdır. Pozitif kist sıvısı sedimenti %10 formol içinde konulabilir.
- Serum veya kist örnekleri doğrulama amaçlı testler (ileri tanı veya moleküler testler) için başka bir merkeze gönderilecekse alındıktan sonraki 48 saat içinde +4°C'de taşınmalıdır. Örnekler kesinlikle sızdırmaz örnek kaplarına alınmış olmalıdır ve bu kaplarla taşınmalıdır.
- Eğer ileri tanı veya moleküler testler için örnekler başka bir şehirdeki laboratuvara gönderilecekse, öncelikle *paketlenme* ve *taşıma* biyolojik materyal taşıma şartlarına uygun olmalıdır (14) (ayrıca bkz. UMS GEN-OY-01 Enfeksiyöz Maddelerin Taşınması Rehberi).

## 4 Test sonuçlarının yorumu, raporlama, bildirim

- Mikroskopik incelemede protoskoleks ya da çengel gibi parazite ait morfolojik yapıların gözlenmesi "**kesin tanı**" bulgusudur (Şekil 2).
- Tek bir serolojik test ile elde edilen bulgu anlamlı kabul edilmez. İki serolojik test ile *anti-E. granulosus* antikorlarının pozitif bulunması "**olası tanı**" bulgusudur (bkz. Şekil 1). Ancak radyolojik olarak kist tanısı ile birlikte vaka "ekinokokkoz" olduğu yönünde değerlendirilir.
- Düşük titrelerdeki pozitiflikler, diğer helmint hastalıklarına karşı çapraz reaksiyonlardan kaynaklanan yalancı pozitiflikler olabilir!
- Özgül proteinlere karşı antikorların saptanabildiği WB, tanıda doğrulama ve çapraz reaksiyonların ekarte edilmesi açısından değerli bir testtir. Tek veya iki serolojik testin pozitif olduğu durumlarda WB ile özgül bantların görülmesi "**kesin tanı**" koydurur.
- Moleküler testler, oldukça duyarlı ve özgüldür. *Echinococcus* spp DNA'sının saptanması "**kesin tanı**" kriteridir.

## 5 Olası sorunlar/kısıtlılıklar

- Mikroskopik incelemede tipik yapıların görülememesi hastalığı tanısını dışlamaz! Mümkünse PCR ile araştırılmalıdır.
- Güvenilirliği arttırmak amacıyla rutinde en az iki serolojik test birlikte kullanılmalıdır.
- Düşük titrelerdeki pozitiflikler diğer helmint hastalıklarına karşı çapraz reaksiyonlardan kaynaklanan "yalancı" pozitifliklere bağlı olabilir. Özgül proteinlere karşı antikorların saptanabildiği WB, tanıda doğrulama ve çapraz reaksiyonları ekarte etme açısından değerli bir testtir.
- Karaciğer, akciğer, dalak vb. organlardaki lezyonların (kistik ekinokok kisti ve amip apsesi) ponksiyonları, rüptür, kanama, pnömotoraks, inokülasyon gibi nedenlerle belirli oranda risk taşımaktadır.

## İlgili diğer UMS belgeleri

Bu prosedür belgesi (Ekinokokkozun Mikrobiyolojik Tanısı) aşağıda listelenen UMS belgeleriyle de ilgilidir ve gerekli bilgi için bu belgelere de bakılması önerilir:

- UMS, P-TP-01 Mikroskop kalibrasyonu
- UMS, P-TP-02 Direkt mikroskopi
- UMS, P-ÖY-01 Dışkı örneklerinin parazitolojik incelemesi
- UMS, GEN-OY-01 Enfeksiyöz maddelerin taşınması rehberi

## Kaynaklar

- 1 King CH. Cestodes (Tapeworms). *In: Mandell, Bennett, Dolin (eds.). Principles and Practice of Infectious Diseases*, 6th ed. Churchill Livingstone, Elsevier. Chapter 288; 2005.
- 2 Fritsche TR, Selvarangan R. Tissue Helminths: Hydatidosis. Medical Parasitology. *In: McPherson RA, Pincus MR (eds.). Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 22nd ed. Elsevier, Saunders, PA. 2011, p.1231-32
- 3 Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik. Resmi Gazete; 02.04.2011 – 27893.  
<http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/04/20110402-3.htm> (son erişim tarihi: 06.01.2014)
- 4 Altıntaş N, Yazar S. Kistik ekinokokkozisde tanı. *In: Altıntaş N, Tınar R, Çoker A (eds). 1. baskı. Hidatidoloji Derneği Yayınları, İzmir. 2004, p. 123-149*
- 5 Özbilgin A, Kilimcioğlu AA, Kistik Echinococcosis. *In: Özcel A, Özbek Y, Ak M (eds). Özcel'in Tıbbi Paraziter Hastalıkları*. 1. baskı. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, İzmir. 2007, p.541-561
- 6 Gottstein B. Hydatid disease. Chapter 114: *In: Cohen J, Opal SM, Powderly WG (eds). Infectious diseases*. 3rd ed. Elsevier Ltd, 2010, p. 1182-7.
- 7 Garcia LS. Tissue cestodes: larval forms. *In: Garcia LS (ed). Diagnostic Medical Parasitology*. 4th ed., ASM Press, Washington D.C. 2001, p. 386-412
- 8 Altıntaş N, Doğanay A. Paraziter Zoonozlar: Kistik ekinokokkozis. *In: Doğanay M, Altıntaş N. (eds). Zoonozlar: Hayvanlardan İnsanlara Bulaşan Enfeksiyonlar*. 1. baskı. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara. 2009, p. 901-938
- 9 Nunnari G, Pinzone MR, Gruttadauria S, Celesia BM, Madeddu G, et all. Hepatic echinococcosis: clinical and therapeutic aspects. *World J Gastroenterol* 2012;7;18(13):1448-58
- 10 Giri S, Parija SC. A review on diagnostic and preventive aspects of cystic echinococcosis and human cysticercosis. *Trop Parasitol* 2012;2(2):99-108
- 11 Zhang W, Wen H, Li J, Lin R, McManus DP. Immunology and immunodiagnosis of cystic echinococcosis: An Update. *Clin Develop Immunol* Volume 2012;101895.
- 12 Echinococcosis: Diagnostic findings. Center for Disease Control and Prevention. Available at: [http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/html/frames/a-f/echinococcosis/body\\_Echinococcosis\\_serol1.htm](http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/html/frames/a-f/echinococcosis/body_Echinococcosis_serol1.htm) (son erişim tarihi: 03.05.2013)
- 13 Garcia LS. Calibration of microscope with an ocular micrometer. *In: Garcia LS, Isenberg HD (eds). Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 2nd ed. update, ASM Press, Washington D.C. 2007, p. 9.3.2.1-4
- 14 Enfeksiyöz madde ile enfeksiyöz tanı ve klinik örneği taşıma yönetmeliği. Sağlık Bakanlığı, Ankara. Resmi Gazete 25.09.2010 – 27710.